

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1930-1931 N° 160

TRAVAIL du LABORATOIRE de MATIÈRE MÉDICALE et BOTANIQUE
de la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

Contribution à l'étude des Phytostérols et Lécithines végétales

Réactions du *Penicillium Glaucum*
cultivé sur le liquide type de RAULIN
renfermant des quantités croissantes d'azotate de potassium
(métabolisme des phytostérols, des lécithines et des sucres)

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 22 Décembre 1930

PAR

Paul COCHET

Né le 7 Décembre 1904 à AIX-LES-BAINS (Savoie)



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

1930

Contribution à l'étude
des
PHYTOSTÉROLS et LÉCITHINES VÉGÉTALES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553621_0066

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1930-1931 N° 160

TRAVAIL du LABORATOIRE de MATIÈRE MÉDICALE et BOTANIQUE
de la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

Contribution à l'étude
des Phytostérols et Lécithines végétales

Réactions du *Penicillium Glaucum*
cultivé sur le liquide type de RAULIN
renfermant des quantités croissantes d'azotate de potassium
(métabolisme des phytostérols, des lécithines et des sucres)

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 22 Décembre 1930

PAR

Paul COCHET

Né le 7 Décembre 1904 à AIX-LES-BAINS (Savoie)



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU
42, Quai Gailleton, 42

1930



PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE
Assesseur	M. ROLLET

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM PIC
Cliniques chirurgicales	PAVIOT
Clinique obstétricale et Accouchements	TIXIER
Clinique ophtalmologique	BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	VORON
Clinique neurologique et psychiatrique	ROLLET
Clinique des maladies des enfants	NICOLAS
Clinique des maladies des femmes	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURIQUAND
Clinique des maladies des voies urinaires	VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	COLLET
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	GAYET
Chimie biologique et médicale	NOVE-JOSSERAND
Chimie organique et Toxicologie	CLUZET
Matière médicale et Botanique	FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	BRETIN
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie externe	POLICARD
Pathologie interne	DOYON
Pathologie et Thérapeutiques générales	VALLAS
Anatomie pathologique	FROMENT
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie	FAVRE
Médecine légale	PATEL
Hygiène	ARLOING (F.)
Thérapeutique	ETIENNE MARTIN
Pharmacie et Pharmacologie	COURMONT (P)
Hydrologie thérapeutique et climatologie	SAVY
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEUR TITULAIRE SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Propédeutique de gynécologie CONDAMIN

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique	MM. THEVENOT (Léon)
Puériculture et hygiène de la première enfance	RHENTER
Chirurgie expérimentale	TAVERNIER
Applications du radium	NOGIER
Stomatologie	TELLIER

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	CHALIER (Joseph)	MARTIN (Joseph)	CHAMBON
ROCHAIX	NOEL	ROCHET (Ph.)	CIBERT
RHENTER	DUMAS	WERTHEIMER	EPARVIER
MAZEL	DUFOUT	GATE	GUILLEMINET
SANTY	DEVIC	BERNHEIM	MORENAS
CHALIER (André)	GABRIELLE	DECHAUME	ROCHE
	MANCEAU	POLLOSSON	REBATTU ch

M. BAYLE, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. BRETIN, *président* ; MOREL, *assesseur* ;
LEULIER, *professeur* et MANCEAU, *agréé*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MA GRAND'MÈRE

A MES PARENTS

Bien faible témoignage de ma
tendresse et de ma reconnaissance
infinie.

A MON FRÈRE LOUIS COCHET

Ingénieur A. et M. E.

Il fut toujours pour nous le plus
sûr conseiller et le meilleur des
amis.

A MES JEUNES FRÈRES JEAN ET ANDRÉ COCHET

En témoignage de ma tendre
affection.

MEIS ET AMICIS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR BRETIN

*Professeur de Matière Médicale et Botanique
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon
Chevalier de la Légion d'Honneur*

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ P. MANCEAU

Chevalier de la Légion d'Honneur

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR LEULIER

*Professeur de Pharmacie et Pharmacologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon
Chevalier de la Légion d'Honneur*

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOREL

*Professeur de Chimie organique et Toxicologie
à la Faculté de Médecine et Pharmacie de Lyon
Chevalier de la Légion d'Honneur*

Contribution à l'étude
des
PHYTOSTÉROLS et LÉCITHINES VÉGÉTALES

Introduction

Au moment d'entreprendre la rédaction de notre thèse, il nous est particulièrement agréable d'adresser nos vifs remerciements à M. le Professeur BRETIN; sans avoir pu bénéficier de son précieux enseignement, nous avons été accueilli par lui avec une infinie bienveillance, il a bien voulu nous accepter dans son service et nous fait le grand honneur de présider cette thèse ; qu'il soit assuré de notre profonde reconnaissance.

M. le Professeur P. MANCEAU, qui a bien voulu nous donner le sujet de notre travail, nous a prodigué les conseils les plus éclairés, au cours de notre stage dans son laboratoire ; il nous a guidé avec sûreté à travers les sentiers quelquefois ardues de la chimie biologique et nous a toujours montré la plus grande sollicitude; qu'il veuille bien agréer ici l'hommage de notre sincère gratitude et de notre affectueux respect.

Nous remercions bien vivement MM. les Professeurs LEULIER et MOREL de nous avoir honoré en acceptant de faire partie du jury de notre thèse.

Nous ne voudrions pas oublier non plus M. le Pharmacien Capitaine REY, nos confrères LEYNAUD et CORAJOD, enfin nos Camarades du laboratoire qui nous ont toujours apporté le concours de leur précieuse et loyale amitié.



Le travail que nous avons entrepris fait suite à l'étude de M. le Professeur MANCEAU sur la synthèse des « lécithines » et des phytostérols chez les champignons cultivés sur le liquide type de Raulin. Nous avons suivi, au cours de notre travail, les méthodes sûres et précises que notre Maître a mises au point et qui sont destinées à jeter un jour nouveau sur cette vaste question.

Notre thèse comprendra cinq parties :

Dans la première, nous étudierons les échanges minéraux chez les champignons.

Dans la seconde, nous décrirons la technique que nous avons suivie pour l'extraction des « lécithines » et des phytostérols.

La troisième sera consacrée à l'étude et au dosage des sucres dans le liquide type de Raulin.

La quatrième sera réservée à l'étude et au dosage des phytostérols.

Dans la cinquième, nous nous occuperons de l'étude et du dosage des « lécithines ».

CHAPITRE PREMIER

Les échanges minéraux chez les champignons

Si, après avoir desséché un champignon à la chaleur de l'étuve nous le calcinons, des gaz s'en dégagent le plus souvent en s'enflammant, mais il reste toujours une certaine quantité de matières incombustibles. Les gaz sont : du gaz carbonique, de la vapeur d'eau, de l'azote, de l'ammoniaque, la matière incombustible est formée d'éléments minéraux dont Pasteur, l'un des premiers, a mis à jour la grande importance. Si nous examinons, en effet, la formule du liquide nutritif sur lequel il ensemençait ses levures, nous voyons qu'il contient 1 % du résidu de leur calcination. RAULIN entreprit de remplacer ce résidu par les substances minérales qu'il renfermait et, au cours de longues et minutieuses études, détermina la valeur nutritive de chacune d'elles. Il fit trois parts parmi les éléments qui concourent à l'édification du mycélium :

1° LES ÉLÉMENTS INDISPENSABLES qui prennent une part prépondérante à la constitution de la plante et lui fournissent l'énergie propre à accomplir ses réactions vitales. Dans cette catégorie rentre le potassium dont la *suppression absolue* du liquide nutritif empêche le développement de toute culture. C'est un agent de condensation énergétique qui favorise beaucoup les phénomènes d'assimilation.

2° LES ÉLÉMENTS UTILES : tel est, par exemple, le silicium dont la présence n'est pas indispensable à la croissance du *Stérigmatocystis nigra*.

3° LES ÉLÉMENTS NUISIBLES qui, tantôt entraînent la mort du champignon, tantôt à des doses plus faibles, retardent sa croissance : il en est ainsi pour le sublimé et le magnésium à hautes doses.

COUPIN (3), qui étudia la toxicité des divers éléments à l'égard du blé, a déterminé ce qu'il a appelé « l'équivalent toxique ».

« Quantité minima de substance qui, dissoute dans 100 centimètres cubes d'eau, détermine la mort de la plante ».

Parmi les métaux : ceux de poids atomique faible sont toxiques ou indifférents, ceux de poids atomique élevé sont nuisibles, seuls sont nécessaires au végétal ceux qui ont des poids atomiques moyens.

RULF DE LAVISON (10) reprit la question et montra, après avoir fait agir un sel à une concentration déterminée sur une plante déterminée, pendant un temps déterminé, son action sur la vie et le développement

de celle-ci. D'après lui, il y aurait une certaine relation entre la toxicité d'un élément et son absorption par le protoplasme. Les bases ou les acides qui pénètrent facilement à l'intérieur du protoplasme ont une toxicité immédiate, tandis que les sels dont la pénétration est plus difficile ont une limite de toxicité beaucoup plus grande.

Ajoutons, pour être complets, que la toxicité d'un élément dépend également de sa dissociation électrolytique et de la mise en liberté du radical qui lui est associé.

A côté de la toxicité, il existe ce qu'on appelle « l'antitoxicité » dont OSTERHOUT (8) a montré la grande importance. Prenons deux solutions A et B séparément toxiques et mélangeons-les, nous verrons que leur toxicité variera suivant les proportions dans lesquelles nous les mélangerons : c'est ainsi que le sulfate de cuivre, très toxique en solution pure, devient moins toxique si nous ajoutons une quantité déterminée d'acide tartrique à sa solution ; la toxicité de l'acide borique est diminuée en présence du saccharose. Le saccharose et l'acide tartrique sont donc des substances antitoxiques, elles agiraient en diminuant dans le protoplasme la diffusion des corps dont elles affaibliraient, par là-même, l'action.



Ces données générales étant posées, examinons comment se fait l'assimilation des nitrates alcalins chez les champignons (6).

Lorsque l'on fait pousser de l'*Aspergillus niger* sur un milieu nutritif qui renferme :

- 50 grammes de saccharose ;
- 1 gramme de SO^4K^2 ;
- 1 gramme de PO^4KH^2 ;
- 10 grammes de NO^3K ;
- des traces de fer et de zinc ;
- 100 cm^3 d'eau,

il n'apparaît dans le milieu aucun élément qui puisse provenir de la réduction des nitrates. En milieu légèrement nitrique de l'ammoniaque et des peptides apparaissent, mais on ne décèle pas de nitrites. En milieu alcalinisé par du carbonate de chaux ou du carbonate de magnésie on décèle de l'ammoniaque, des peptides en plus grandes quantités, enfin des traces de nitrites. Selon la source de carbone la vitesse d'apparition de ces corps dans le milieu varie : plus la substance carbonée est difficilement utilisable, plus l'azote aminé augmente. Ces différentes expériences montrent que, chez les moisissures, l'assimilation des nitrates se fait comme chez les plantes vertes : les nitrates sont réduits par le protoplasme en nitrites, puis en ammoniaque qui se fixe ensuite sur une chaîne carbonée pour donner des peptides.

Il y a, en outre, séparation complète de l'ion basique et du radical acide ainsi que l'a démontré TANRET (1) à propos de l'*Aspergillus*. En faisant pousser ce champignon sur du liquide de Raulin qui renfermait des doses croissantes de nitrate d'ammonium, le champignon ne sporulait pas et l'acide du sel ammoniacal apparaissait à l'état libre dans le milieu de culture.

CHAPITRE II

Technique suivie pour l'extraction des phytostérols et des lecithines

1° Ensemencement

Le liquide que nous avons choisi pour faire pousser nos cultures de *Penicillium* est le liquide type de Raulin, dont la composition est la suivante :

Eau distillée	1.500 cm ³
Saccharose	70 grammes
Acide tartrique	4 grammes
Nitrate d'ammonium	4 grammes
Phosphate d'ammonium	0 gr. 60
Carbonate de potassium	0 gr. 60
Carbonate de magnésie	0 gr. 40
Sulfate d'ammonium	0 gr. 25
Sulfate de zinc	0 gr. 07
Silicate de potassium	0 gr. 07
Carbonate de manganèse	0 gr. 05

Verser ce liquide dans un flacon de deux litres, le stériliser par chauffage à l'autoclave à la température de 120° pendant une demi-heure, puis le répartir dans des matras stérilisés, bouchés avec un tampon de coton cardé à la dose de 100 cm³ par matras ; introduire alors successivement dans chacun d'eux les doses suivantes de nitrate de potassium *chimiquement pur* :

N° 1	0 gr. 02 de NO ³ K
N° 2	0 gr. 04 de NO ³ K
N° 3	0 gr. 06 de NO ³ K
N° 4	0 gr. 08 de NO ³ K
N° 5	0 gr. 10 de NO ³ K
N° 6	0 gr. 15 de NO ³ K
N° 7	0 gr. 20 de NO ³ K
N° 8	0 gr. 25 de NO ³ K
N° 9	0 gr. 30 de NO ³ K
N° 10	0 gr. 35 de NO ³ K

Faire l'ensemencement des spores de *Penicillium* d'après la technique de RAVIN :

« Les spores de *Penicillium glaucum* provenant d'une culture sur tranche de citron sont ensemencées sur 100 cm³ de liquide de Raulin ; ces spores étant bien mûres, c'est-à-dire vert foncé, le liquide de Raulin est décanté et remplacé par de l'eau distillée. Après plusieurs lavages, toujours aseptiquement faits, il est ajouté environ 50 cm³ d'eau stérilisée et le matras est agité énergiquement. Le mycélium peu épais, facilement désagrégé par le pouce, abandonne ses spores au liquide. Le liquide est filtré toujours aseptiquement, dans un petit appareil stérilisé, composé

d'un petit matras dont le goulot est obstrué par un gros tube effilé, entouré de coton, ce tube bouché à l'ouate contient, reposant sur sa partie rétrécie, un petit tampon de coton hydrophile très peu tassé. Le tout constitue ainsi un appareil de filtration aseptique qui laisse passer les spores dans le matras et retient la presque totalité du mycélium ».

On obtient dès lors un liquide très riche en spores dont on prélève 1 cm³ pour ensemençer le liquide nutritif de chaque matras. Dans toutes ces opérations, opérer aussi aseptiquement que possible afin d'éviter l'introduction de levures qui, par suite de la zymase qu'elles renferment, détruiraient le glucose formé en le transformant en alcool et gaz carbonique. Laisser pousser les cultures pendant 10 jours à la température de 25°, au bout de ce temps, elles sont denses et possèdent un mycélium blanchâtre dont toute la surface supérieure est tapissée de belles spores vert olive.

2• Récolte

Pour en faire la récolte, recueillir le liquide nutritif de chaque matras sur un filtre sans plis en y joignant les eaux de lavage jusqu'à rétablissement de son volume primitif. Le tout est porté ensuite à l'ébullition et versé dans des flacons stérilisés pour le dosage du saccharose. Le champignon, saisi à l'aide d'une pince, est ensuite lavé, séché soigneusement entre deux feuilles de papier buvard et pesé. Une

partie de celui-ci, de poids déterminé, est ensuite portée à l'étuve, maintenue pendant 48 heures à la température de 105° et pesée, ceci pour calculer le poids sec. D'une façon générale, on peut dire que les champignons à l'état frais pèsent six fois plus qu'à l'état sec. L'autre partie, de poids déterminé, est broyée aussitôt avec de l'alcool absolu (1) en présence de quelques pincées de sulfate de soude anhydre, de façon à empêcher l'action des diastases qui hydroliseraient les « lécithines » et introduite dans un appareil de Kumagawa :

Numéros des cultures (2)	Quantité de N 0 ³ K introduite dans 100 cm ³ de liquide de type de Raulin	Poids du champignon frais	Poids du champignon sec	Prise d'essai du champignon frais mis à l'étuve pour la déter- mination du poids sec	Poids du champignon sec après 48 heures d'étuve, déterminé par deux pesées successives	Poids sec pour 100 gr. de champignon frais	Prise d'essai du champignon frais pour le dosage des phytostérols et des lécithines
Etalon	0 gr.	10 gr. 40	1 gr. 61	5 gr.	0 gr. 80	16 gr.	5 gr.
1	0 gr. 02	11 gr.	1 gr. 8½	6 gr. 50	1 gr. 09	16 gr. 76	4 gr. 23
2	0 gr. 04	10 gr. 62	1 gr. 80	5 gr. 30	0 gr. 90	16 gr. 98	5 gr. 24
3	0 gr. 06	10 gr. 81	1 gr. 82	5 gr. 40	0 gr. 91	16 gr. 85	5 gr. 24
4	0 gr. 08	11 gr. 20	1 gr. 85	5 gr. 00	0 gr. 83	16 gr. 60	4 gr. 70
5	0 gr. 10	11 gr. 30	1 gr. 83	5 gr. 10	0 gr. 83	16 gr. 29	5 gr. 04
6	0 gr. 15	11 gr. 40	1 gr. 84	5 gr. 00	0 gr. 81	16 gr. 20	5 gr. 00
7	0 gr. 20	11 gr. 40	1 gr. 82	5 gr. 00	0 gr. 80	16 gr. 00	5 gr. 00
8	0 gr. 25	11 gr. 30	1 gr. 78	5 gr. 00	0 gr. 79	15 gr. 80	5 gr. 00
9	0 gr. 30	11 gr. 42	1 gr. 75	5 gr. 00	0 gr. 77	15 gr. 40	5 gr. 00
10	0 gr. 35	11 gr. 40	1 gr. 73	5 gr. 00	0 gr. 76	15 gr. 00	5 gr. 00

(1) Nous avons employé de l'alcool absolu parce que l'eau contenue dans le champignon diminue le titre de l'alcool employé.

(2) Toutes les récoltes ont été faites après 10 jours de culture à 25°.

L'appareil de Kumagawa se compose de deux parties : la partie supérieure est un réfrigérant qui permet la condensation de l'alcool, la partie inférieure est un ballon muni de trois griffes qui maintiennent un cylindre en verre pourvu d'un siphon et de deux oreillettes, de telle façon qu'on peut le retirer avec un crochet de fil de fer. Après avoir suspendu le cylindre à l'aide d'un triangle en terre de pipe au-dessus d'un grand récipient, introduire une petite boule de coton de verre et au-dessus une cartouche de papier Durieux. Puis, ayant au préalable décanté dans un verre à pied l'alcool absolu, faire couler dans la cartouche à l'aide d'un petit entonnoir le magma d'alcool et de mycélium. Laver à l'aide de l'alcool absolu le flacon où séjournera le mycélium afin d'éviter des pertes et introduire le tout dans le cylindre, boucher avec un tampon de coton hydrophile. Verser le liquide alcoolique filtré dans le ballon renfermant quelques billes de verre pour régulariser la marche de l'ébullition; mettre l'appareil en marche, et poursuivre l'extraction pendant trois heures en moyenne; au bout de ce temps, recueillir l'extract alcoolique dans une éprouvette graduée après l'avoir filtré sur du coton hydrophile, noter son volume et en faire deux parts : l'une destinée au dosage des phytostérols, l'autre au dosage des « lécithines ».

CHAPITRE III

Etude et dosage du saccharose dans le liquide de Raulin

1^o Étude

Les matières organiques employées comme sources de carbone pour le *Penicillium* sont : le saccharose et l'acide tartrique ; ce n'est pas là, en réalité, une règle générale, car COUPIN a démontré que l'on pouvait très bien se servir également de divers composés organiques de la série grasse.

Le saccharose est un corps qui a pour formule : $C^{12}H^{22}O^{11}$. Il cristallise de ses solutions aqueuses en prismes monocliniques anhydres. Il ne contient pas de fonction aldéhydrique et, par là même, n'a aucune action sur la liqueur de Fehling. Il est dextrogyre, son pouvoir rotatoire est : $\alpha_d = + 65^{\circ}5$. Soluble dans le tiers de son poids d'eau, il l'est beaucoup moins dans l'alcool. Il est fusible à $+ 160^{\circ}$ et cristallise par

refroidissement. A l'encontre du maltose et du lactose, il ne donne pas d'osazone.

Le protoplasme le décompose sous l'action d'une enzyme spéciale appelée « invertine » ou « sucrase » qu'il secréterait. Celle-ci n'existerait pas à l'état de dissolution, mais à l'état colloïdal dans la cellule ; elle serait formée d'une substance hydrocarbonée qui servirait de support à la matière minérale appelée à jouer un rôle particulièrement actif. M^{lle} GOMBERT (19), au cours de sa thèse de doctorat en pharmacie, a montré que cette matière minérale était surtout du magnésium qui communiquerait au ferment son pouvoir hydrolysant. L'action de l'invertine se rapproche de celle des corps appelés « catalyseurs ». Comme eux, et par sa seule présence, elle modifie le contenu cellulaire ; comme eux, elle demeure inaltérée à la fin de la réaction ; enfin comme eux, en faible proportion, elle peut hydrolyser une très grande quantité de substance. Le mécanisme de la transformation qu'elle produit reste encore obscur ; on suppose qu'elle formerait, au cours de son action, un composé intermédiaire, sans cesse détruit, sans cesse régénéré. Pour BRIDEL, ce serait la cause de la non-réversibilité de sa réaction ; d'après lui, le saccharose, sous l'action du ferment, se dédoublerait en glucose et en un fructose intermédiaire qui se transformerait ensuite en fructose ordinaire. Elle agit en milieu faiblement acide et son optimum d'action s'étend entre pH 4, 5 et pH 6.

2° Dosage

Prélever 20 cm³ du liquide de Raulin, après en avoir déterminé le volume initial ; les diluer à 100 cm³ avec de l'eau distillée, les verser dans un erlenmeyer avec 20 gouttes d'acide chlorhydrique pur et les abandonner vingt minutes à l'ébullition. Après avoir laissé refroidir, neutraliser par la soude en présence de papier de tournesol ; compléter à 100 cm³ avec de l'eau distillée pour remplacer l'eau évaporée pendant l'ébullition ; prélever alors 20 cm³ de la solution en vue du dosage du saccharose par la méthode de Bertrand (24). (1)

Nous avons cherché à établir la proportion de sucre (saccharose) brûlé par le *Penicillium* au cours de son développement, soit sur du liquide type de Raulin, soit sur ce même liquide, additionné de quantités croissantes d'azotate de potassium.

Cette proportion, rapportée à 100 grammes de mycélium sec, est représentée par le rapport

$$P = \frac{B}{A}$$

où A exprime la quantité théorique de saccharose offerte à la consommation pour 100 grammes de mycélium sec, et B représente la quantité de saccharose réellement consommée par 100 grammes de mycélium sec. Elle se calcule par la formule :

$$P = \frac{b \times n}{a \times n'}$$

(1) Le dosage après défécation au Courtonne donne des résultats absolument identiques au dosage effectué directement sur le liquide.

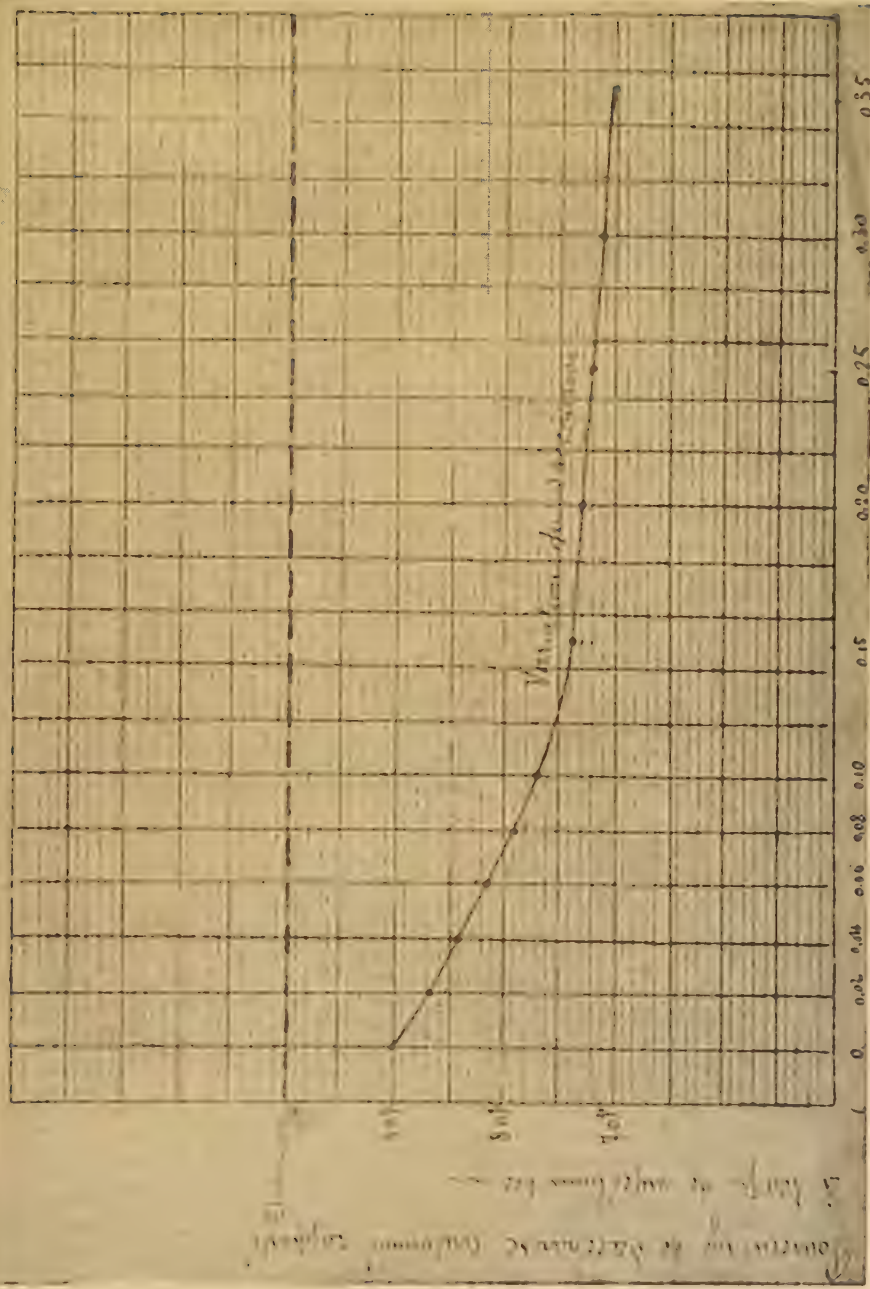
On appelle a le poids de saccharose contenu dans 100 grammes de liquide type de Raulin, b est la quantité de saccharose brûlé par le champignon, n représente le poids de substance sèche de la culture récoltée sur 100 grammes de liquide type de Raulin, n' représente le poids de substance sèche de la culture récoltée sur 100 grammes de liquide type de Raulin additionné de quantités croissantes d'azotate de potassium.

Exemple : Pourcentage de sucre (saccharose) utilisé par le champignon, au cours de sa croissance, sur le liquide type de Raulin, additionné de 0,02 de nitrate de potassium, rapporté à 100 grammes de substance sèche ; on a :

$$P = \frac{4,54 \times 1,61}{4,66 \times 1,84} = 85 \text{ gr.}, 18 \%$$

Numéros des cultures (1)	Quantité de N ⁰³ K introduite dans 100 gr. de liquide type de Raulin	Poids du champignon sec	Poids sec pour 100 gr. de champignon frais	Teneur en saccharose du liquide type de Raulin 71 gr pour 1 500 cm ³ 4,66 %	Quantité de saccharose consommée par le champignon	Quantité de saccharose non consommée par le champignon	Pourcentage de saccharose consommé rapporté à 100 gr. de champignon sec
Etalon	0 gr.	1 gr. 61	16 gr.	4 gr. 66	4 gr. 11	0 gr. 55	90 gr. 00
1	0 gr. 02	1 gr. 84	16 gr. 76	4 gr. 66	4 gr. 54	0 gr. 12	85 gr. 18
2	0 gr. 04	1 gr. 80	16 gr. 98	4 gr. 66	4 gr. 40	0 gr. 26	84 gr. 48
3	0 gr. 06	1 gr. 82	16 gr. 85	4 gr. 66	4 gr. 36	0 gr. 30	82 gr. 66
4	0 gr. 08	1 gr. 85	16 gr. 60	4 gr. 66	4 gr. 19	0 gr. 47	78 gr. 18
5	0 gr. 10	1 gr. 83	16 gr. 29	4 gr. 66	4 gr. 05	0 gr. 61	76 gr. 52
6	0 gr. 15	1 gr. 84	16 gr. 20	4 gr. 66	3 gr. 91	0 gr. 75	73 gr. 39
7	0 gr. 20	1 gr. 82	16 gr. 00	4 gr. 66	3 gr. 85	0 gr. 81	72 gr. 99
8	0 gr. 25	1 gr. 78	15 gr. 80	4 gr. 66	3 gr. 73	0 gr. 93	72 gr. 37
9	0 gr. 30	1 gr. 75	15 gr. 40	4 gr. 66	3 gr. 64	1 gr. 02	71 gr. 87
10	0 gr. 35	1 gr. 73	15 gr. 00	4 gr. 66	3 gr. 55	1 gr. 11	70 gr. 84

(1) Toutes les récoltes ont été faites après 10 jours de culture à 25°.



Quantités en centigrammes, de N^o 8 ajoutées à 100 gr. de liquide type de Raulin.

Interprétation des résultats

L'azotate de potassium, aux doses indiquées plus haut, ralentit le métabolisme des sucres (saccharose) et le ralentissement de leur consommation est proportionnel à la quantité d'azotate de potassium introduite dans le liquide type de Raulin.

CHAPITRE IV

Les phytostérols

Étude et dosage

HISTORIQUE :

C'est en 1862 que BENECKE (25) isola dans les pois une substance qu'il confondit avec les sels biliaires. En 1878, HESSE (34) la trouva dans la fève de Calabar et, après de longues et minutieuses études, montra que son point de fusion et sa déviation polarimétrique étaient différents de ceux de la cholestérine animale. Peu de temps après, SCHULZE et BARBIERI (41) découvrirent la « phytostérine » dans les graines de lupin, tandis que JACOBSON mit en lumière dans diverses légumineuses, des cholestérines très voisines les unes des autres de formule $C^{26}H^{44}O$ à point de fusion variant de $131^{\circ}5$ à $136^{\circ}5$ à déviations polarimétriques s'étendant de $-30^{\circ}40$ à $-33^{\circ}40$. Après avoir affirmé pendant quelque temps que l'on était en présence d'un

même corps, on fut bientôt obligé d'admettre l'opinion contraire. TANRET (43), en effet, qui avait extrait « l'ergostérine » de l'ergot de seigle, démontra que ce corps ne ressemblait pas, tant au point de vue physique qu'au point de vue chimique, aux stérols retirés des phanérogames. GÉRARD (30), qui étudia principalement le *Penicillium glaucum*, le *Mucor mucédo*, le *Staphylocoque blanc*, confirma ces faits; d'après lui, les stérols extraits des végétaux inférieurs se rattachent tous à un même groupe, celui de l'ergostérol. Nous devons enfin citer les travaux de WINDAUS (45), HAUTH (46) et RITTER (40) qui insistèrent beaucoup sur la pluralité des stérols et la difficulté de les obtenir à l'état pur. Dans ces conditions, il est très difficile de définir d'une façon exacte les propriétés de chacun d'eux.

COMPOSITION ET ORIGINE :

Les phytostérols sont des corps à fonction alcoolique d'une constitution chimique très complexe. Leurs pouvoirs rotatoires sont tantôt lévogyres, tantôt dextrogyres, leurs propriétés physiques et chimiques très variables. Ils semblent voisins des terpènes et des résines, certaines réactions les rapprochant des pigments végétaux : c'est ainsi que par oxydation, le carotène donne naissance à un phytostérol de formule $C^{22}H^{44}O$.

Ils seraient, pour HOPPE SEYLER, « des produits de dédoublement résultant du processus habituel de la vie cellulaire ».

ETUDE DE L'ERGOSTÉROL :

Composé de formule $C^{26}H^{40}O.H^2O$, il retient fortement son eau de cristallisation, n'en perdant que 60 % dans le vide sulfurique, il la reprend du reste immédiatement lorsqu'on l'expose à l'air libre. Ses cristaux se présentent sous forme de lamelles hexagonales de 2 à 4 m/m de longueur.

(43) « Il est tout à fait insoluble dans l'eau, se dissout dans 36 parties d'alcool à 95° bouillant et dans 526 parties à froid dans 28 parties d'éther anhydre bouillant et 50 parties à 20°, 50 parties de chloroforme à 18° et quelques parties seulement de chloroforme chaud (avec deshydratation partielle) ».

Son point de fusion, qui a donné lieu, suivant les expérimentateurs, à de nombreuses variations, peut être établi à + 160° au bloc Maquenne. Son pouvoir rotatoire est — 126° ou — 132° en solution chloroformique suivant qu'il est ou non hydraté. Son absorption des rayons ultra-violets est tout à fait particulière ; M. le Professeur LEULIER (38), qui l'a étudiée, déclare qu'elle « est mille fois plus intense que celle du cholestérol et encore appréciable pour des solutions au 100 millième. Elle est surtout localisée entre 2.700 et 3.000 UA et présente trois ou quatre maxima ». Au point de vue chimique, c'est un corps très instable s'oxydant et jaunissant à l'air et à la lumière, en prenant une certaine odeur. Alcool monoatomique, on a pu en préparer les éthers formique, acétique et butyrique.

Réactions caractéristiques (43). « L'acide sulfurique

à 96 % dissout complètement les ergostérines en se colorant en rouge orangé, du chloroforme agité avec cette solution reste incolore. Cette réaction est caractéristique des ergostérines qu'elle différencie de la cholestérine et de la phytostérine.

2° a) Quelques cristaux de cholestérine projetés sur une dizaine de gouttes d'acide sulfurique à 92 %, déposés dans une capsule, se colorent en rouge, mais *sans se dissoudre*. Après 5 minutes, on promène dans la capsule quelques gouttes de chloroforme qui dissolvent la cholestérine attaquée par l'acide et se colorent en rouge.

b) Dans les mêmes conditions, l'ergostérine *se dissout partiellement* dans l'acide et il faut plus d'une minute pour qu'une teinte rouge sale commence à apparaître ».

3° Signalons enfin la réaction de LIEBERMANN caractéristique des phytostérols, pour qui elle se produit instantanément, alors qu'elle met plus longtemps à apparaître avec les cholestérines animales : si, à une solution chloroformique d'ergostérol, nous ajoutons 2 cm³ d'anhydride acétique et 3 gouttes de SO⁴H², il se développe une coloration verte, proportionnelle à la quantité de phytostérols contenue dans la solution.

DOSAGE :

C'est cette dernière réaction que nous avons utilisée pour le dosage des phytostérols dans le *Penicillium*. Prélever une quantité déterminée de l'extrait alcoolique retiré du Kumagawa et l'évaporer à 10 cm³.

Après l'avoir mise dans une ampoule à décantation, ajouter 10 cm³ d'une solution aqueuse au centième de soude et mélanger doucement sans agiter ; y introduire ensuite 25 cm³ d'éther éthylique. Il est important d'ajouter pareille quantité d'éther, autrement le coefficient de partage (26) ne joue plus et on n'obtient pas de surface de séparation. Mélanger de nouveau doucement et laisser reposer. Soutirer la couche aqueuse inférieure, ajouter 4 cm³ d'eau distillée que l'on fait couler le long des parois de l'ampoule, rouler l'ampoule entre ses mains et soutirer la couche aqueuse inférieure. Recommencer une seconde fois la même opération. Recueillir ensuite l'éther que l'on évapore à siccité, reprendre le résidu par 5 cm³ de chloroforme, introduire la solution dans un tube de verre gradué, puis ajouter 2 cm³ d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique : il se développe, aussitôt, une belle coloration verte que l'on compare à celle des tubes étalons.

Tubes étalons : Faire des tubes étalons échelonnés de 2 à 1 milligramme avec une solution chloroformique d'ergostérol à 0,05 %. Mettre dans le tube :

N° 1	4 cm ³	de la solution étalon :	0,0020	d'ergostérol
N° 2	3 cm ³ 5	—	: 0,00175	—
N° 3	3 cm ³	—	: 0,00150	—
N° 4	2 cm ³ 5	—	: 0,00125	—
N° 5	2 cm ³	—	: 0,0010	—
N° 6	1 cm ³ 5	—	: 0,00075	—
N° 7	1 cm ³	—	: 0,00050	—

Après avoir complété à 5 cm³ avec du chloroforme, ajouter dans les mêmes conditions que pour la solu-

tion à doser 2 cm³ d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique.

RÉSULTATS

Numéros des cultures (1)	Quantité de N 0 ³ K introduite dans 100 cm ³ de liquide type de Raulin	Poids du champignon sec	Poids sec pour 100 gr. de champignon frais	Quantité de phytostérols trouvée		
				Pour 100 gr. de substance sèche	Pour 1000 gr. de substance sèche	Pour 1000 gr. de substance fraîche
Etalon	0 gr.	1 gr. 61	16 gr. 00	0 gr. 450	4 gr. 50	0 gr. 72
1	0 gr. 02	1 gr. 84	16 gr. 76	0 gr. 638	6 gr. 38	1 gr. 07
2	0 gr. 04	1 gr. 80	16 gr. 98	0 gr. 589	5 gr. 89	1 gr. 00
3	0 gr. 06	1 gr. 82	16 gr. 85	0 gr. 576	5 gr. 76	0 gr. 97
4	0 gr. 08	1 gr. 85	16 gr. 60	0 gr. 566	5 gr. 66	0 gr. 94
5	0 gr. 10	1 gr. 83	16 gr. 29	0 gr. 546	5 gr. 46	0 gr. 89
6	0 gr. 15	1 gr. 84	16 gr. 20	0 gr. 524	5 gr. 24	0 gr. 85
7	0 gr. 20	1 gr. 82	16 gr. 00	0 gr. 512	5 gr. 12	0 gr. 82
8	0 gr. 25	1 gr. 78	15 gr. 80	0 gr. 496	4 gr. 96	0 gr. 78
9	0 gr. 30	1 gr. 75	15 gr. 40	0 gr. 490	4 gr. 90	0 gr. 75
10	0 gr. 35	1 gr. 73	15 gr. 00	0 gr. 486	4 gr. 86	0 gr. 73

Nous avons transcrit, d'autre part, ces résultats sur le graphique ci-contre.

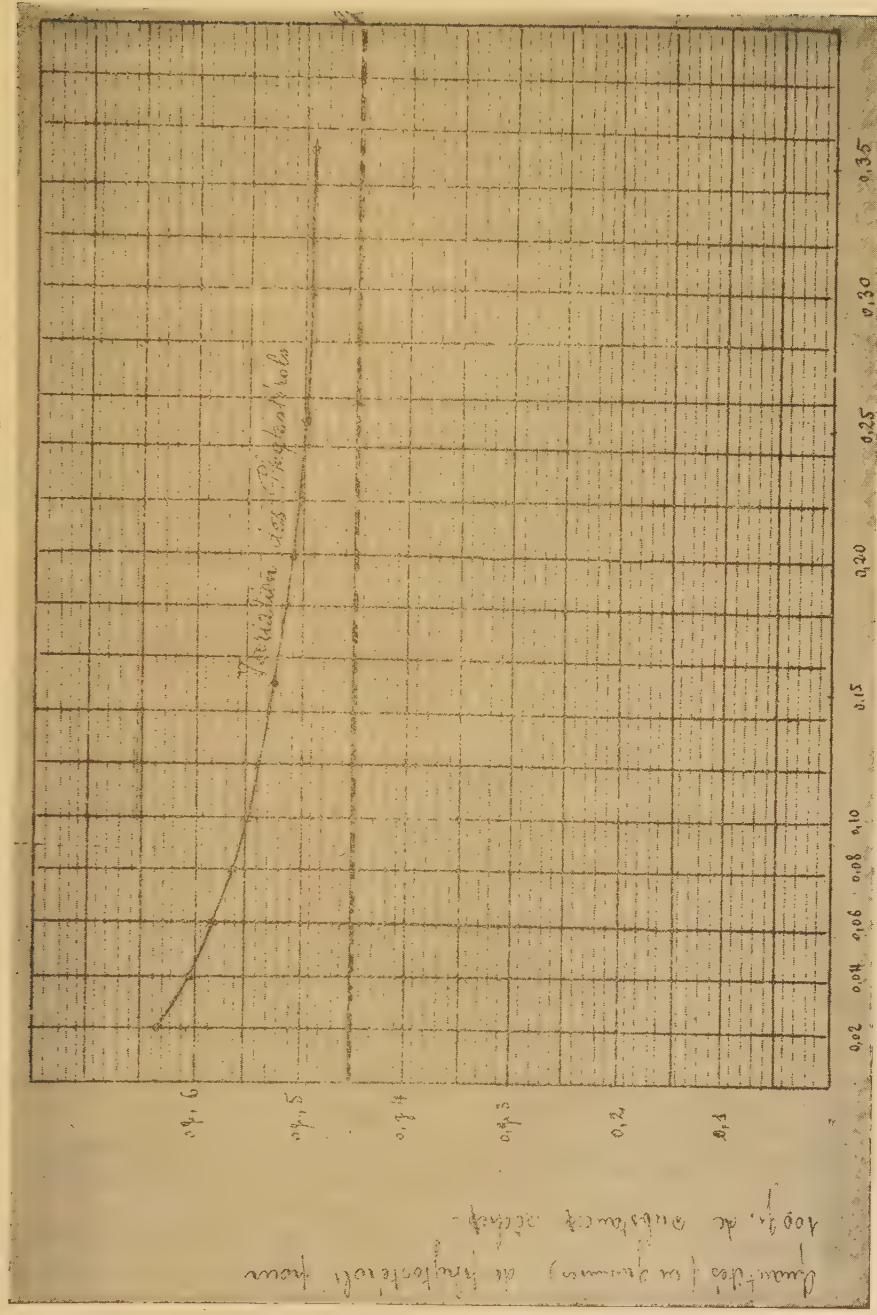
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS :

I. — Nous pouvons dire que l'introduction d'azotate de potassium dans le liquide type de Raulin favorise la production des phytostérols, en effet, la proportion de phytostérols trouvée est beaucoup plus grande en présence d'azotate de potassium qu'en son absence.

(1) Toutes les récoltes ont été faites après 10 jours de culture à 25°.

PHYTOSTÉROLS

l'annon. indiquant la quantité de phytostérols que renferme une culture de pénicillium sur liquide type de Raulin



Quantités (en centigrammes) de NO_3K ajoutées à 100 gr. de liquide type de Raulin.

II. — Nous constatons aussi que les phytostérols varient en raison inverse de la quantité d'azotate de potassium introduite dans le liquide type de Raulin : à des quantités *croissantes* d'azotate de potassium correspondent des quantités *décroissantes* de phytostérols.

CHAPITRE V

Les "Lécithines"

Étude et dosage

I. — DÉFINITION ET CONSTITUTION :

Nous appelons « lécithines » (62) « les éthers glycérophosphoriques de la choline unis aux acides gras, solubles dans l'éther absolu après reprise par ce solvant de l'extrait alcoolique desséché à basse température ».

Ces corps découverts par GOBLEY, en 1846, furent successivement étudiés par LIEBREICH, STRECKER, STOKLASA, SCHULTZE et, plus récemment, par COUSIN (51), ROLLET (64), DESGREZ (54) et FOURNEAU (55), qui mirent en lumière leur constitution complexe et leurs principales propriétés. Ils ont pour noyau l'acide glycérophosphorique qui résulte de l'éthérification d'une molécule de glycérine par une molécule d'acide phos-

phorique et qui se présente sous deux formes isomériques α et β .



La première résulte de l'éthérification d'une des fonctions alcool primaire de la glycérine et possède un atome de carbone asymétrique.

La seconde provient de l'éthérification de sa fonction alcool secondaire, elle est sans action sur la lumière polarisée.

Des deux formules transcrites plus haut, il résulte que l'acide glycérophosphorique possède deux fonctions alcool et deux fonctions acide. Si nous éthérifions les fonctions alcool par des acides gras dont l'un est toujours un acide non saturé, si, d'autre part, nous fixons sur l'une des fonctions acide une molécule de choline, nous obtenons la formule de constitution des *lécithines*.

II. — PROPRIÉTÉS :

Les *lécithines* végétales se présentent sous forme d'une masse molle, jaune cireuse, très altérable en présence de l'eau, de l'air et de la chaleur au-dessus de 50° , ce qui explique les multiples précautions qui doivent présider à leur extraction. Elles sont solubles dans l'alcool fort, l'éther anhydre, le chloroforme, les huiles, mais insolubles dans l'eau, la glycérine, l'acétone. Elles présentent au

microscope le phénomène de la biréfringence et sont facilement décomposables par les bases et les acides. Elles se combinent aux chlorures de cadmium et de platine, aux chlorures ferreux et ferrique, pour donner des sels doubles. Ce sont des corps excessivement instables : c'est ainsi que, sous l'action du suc pancréatique, elles se décomposent en acide glycérophosphorique, choline et acides gras ; aussi leurs réactions sont-elles le plus souvent celles de leurs produits de dédoublement.

III. — DOSAGE :

Après avoir prélevé pour le dosage des phytostérols une partie déterminée de l'extrait alcoolique retiré du Kumagawa, l'autre partie destinée au dosage des « lécithines » est soumise avec précaution à la distillation jusqu'au volume de 30 cm³, transvasée dans une capsule et évaporée dans le vide à une température de 35 à 40°. L'extrait alcoolique, après avoir été bien desséché sur l'acide sulfurique, est épuisé par une quantité déterminée d'éther anhydre (obtenu par distillation sur du sodium après vingt-quatre heures de contact). La solution éthérée introduite dans un ballon de Kjeldahl, est ensuite évaporée à siccité au bain-marie électrique. On obtient ainsi un extrait contenant, avec les phytostérols et les « lécithines », des graisses et des acides gras.

Minéralisation de l'extrait éthéré. — Nous avons minéralisé cet extrait par la méthode sulfonitrique employée, pour la première fois, par le Pharmacien

militaire MILLON et perfectionnée par NEUMANN (63). BAUMANN (47) a reproché à cette méthode de causer des pertes d'acide phosphorique par volatilisation. En réalité, il n'en est rien, à condition d'opérer avec précaution et très lentement : reprendre l'extrait éthéré par 1 cm³ d'eau distillée et y ajouter goutte à goutte, afin d'éviter les projections, 2 cm³ d'acide sulfurique concentré, 1 bille de verre ; porter ensuite le tout à l'ébullition modérée, sous une hotte, pendant 4 à 5 minutes. Au bout de ce temps, ajouter goutte à goutte 2 cm³ d'acide nitrique fumant. Si, lorsque les vapeurs nitreuses ont cessé de se dégager, le liquide est brun, ajouter de nouveau de l'acide nitrique fumant. Terminer la destruction jusqu'à décoloration complète ou coloration jaune pâle. Ajouter quelques décigrammes d'urée pour détruire les vapeurs nitreuses et laisser refroidir. Reprendre alors par 60 cm³ d'eau distillée, puis filtrer sur papier Prat-Dumas mouillé pour éliminer les graisses. A ce moment, les matières organiques sont détruites et le phosphore des « lécithines » est amené à l'état d'acide phosphorique.

DOSAGE DE L'ACIDE PHOSPHORIQUE :

1^o *Méthode de Machebœuf* (60). — La solution provenant de la minéralisation est neutralisée par l'ammoniaque en présence de papier de tournesol et évaporée à l'ébullition jusqu'à réduction de son volume à 6 cm³. Au cours de cette dernière opération, les ions pyro ou métaphosphoriques formés pendant la destruction sulfonitrique sont transformés en ions

orthophosphoriques seuls décelables par le réactif molybdique. Porter la solution au bain-marie bouillant après avoir ajouté 2 cm³ de nitrate d'ammonium et 2 cm³ d'acide nitrique, la précipitation se faisant mieux en sa présence (68). Laisser dix minutes en contact, introduire 6 cm³ de molybdate d'ammonium, abandonner de nouveau le mélange pendant dix minutes. Au bout de ce temps, le précipité de phosphomolybdate d'ammonium est formé; laisser refroidir et ajouter 5 cm³ d'alcool à 90°, filtrer le précipité rassemblé au fond du ballon sur un creuset de Gooch renfermant une rondelle de papier filtre et dessus une bonne couche d'amiante (1). Le laver soigneusement avec de l'alcool à 50°, puis le dissoudre dans de l'ammoniaque dilué de quatre volumes d'eau; enfin, introduire la solution dans un erlenmeyer. Ajouter 10 cm³ de solution de soude N/25, deux ou trois cloches capillaires et porter à l'ébullition. Constater la disparition de l'ammoniaque qui s'est dégagé à l'aide d'un papier de tournesol. Introduire alors dans le ballon 10 cm³ d'acide sulfurique N/25 et, tout en maintenant l'ébullition, titrer son excès par la soude N/25 en présence de phénolphtaléine. La coloration rose obtenue doit se maintenir au moins pendant 5 minutes.

Le nombre de cm³ trouvés multiplié par 0,0448, donne la quantité de P en milligrammes contenue dans la prise d'essai. Ce résultat, multiplié par le coefficient 26,51, donne la quantité correspondante de distéaryllécithines.

(1) Cette amiante a été lavée à l'acide, puis rincée à l'eau jusqu'à réaction neutre

Cette méthode expérimentée préalablement sur des solutions titrées de « lécithines » nous a donné entière satisfaction pour des doses de P de l'ordre du milligramme

2° *Méthode de Bell et Doisy (48) :*

a) *Principe.* — En présence de l'acide phosphomolybdique, l'hydroquinone donne une coloration bleue, même lorsque la solution de phosphomolybdate ne renferme que de très petites quantités de phosphore.

b) *Technique.* — Prendre 5 cm³ de la solution d'acide phosphorique provenant de la minéralisation de l'extrait étheré et diluer avec 25 cm³ d'eau ; dans une autre fiole semblable servant d'étalon, mesurer 5 cm³ d'une solution qui contient, par litre, 0 gr. 4394 de phosphate mono-potassique desséché sur l'acide sulfurique jusqu'à poids constant (1 cm³ de cette solution correspond à 1/10 de milligramme de phosphore) ; introduire successivement dans chacune des deux fioles : 5 cm³ d'une solution obtenue en dissolvant 50 grammes de molybdate d'ammonium pur dans un litre de solution normale d'acide sulfurique, ensuite 5 cm³ d'une solution d'hydroquinone préparée en dissolvant 2 grammes d'hydroquinone dans 100 cm³ d'eau distillée additionnée de 1 cm³ d'acide sulfurique dilué à 1 pour 10 ; cinq minutes après, ajouter 25 cm³ d'une solution aqueuse contenant 400 grammes de carbonate de soude et 195 grammes de sulfite de soude pour un volume total de 2 litres 1/2. Agiter et porter dans le colorimètre après cinq à dix minutes, en prenant soin d'y verser simultanément le contenu des deux fioles.

c) *Critique.* — Cette méthode, expérimentée tout d'abord sur des solutions de « lécithines » de titre connu, nous a donné les résultats les plus déconcertants par suite des modifications d'acidité; nous avons alors songé à neutraliser la solution d'acide phosphorique provenant de la minéralisation par de la lessive de soude exempte de phosphore, nous avons ensuite acidifié le milieu par addition d'une goutte d'acide sulfurique : la méthode de Bell et Doisy comparée à celle de Machebœuf nous a donné les mêmes résultats.

RÉSULTATS

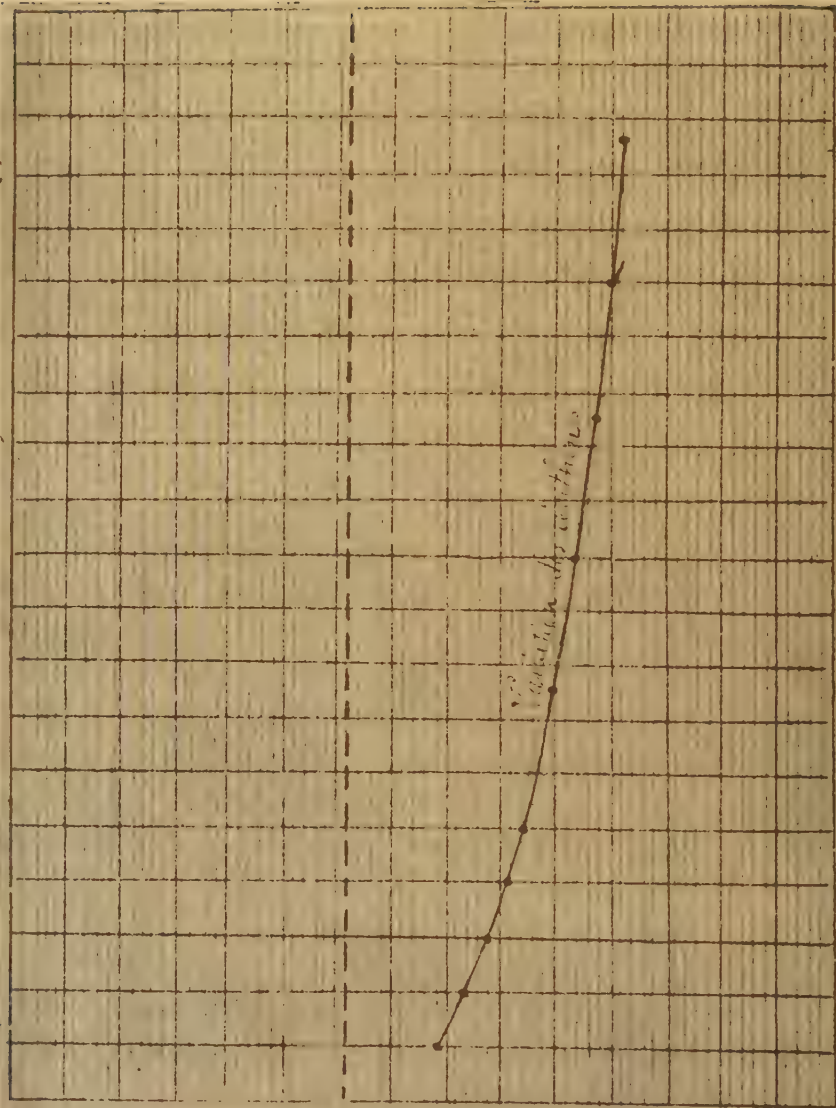
Numéros des cultures (1)	Quantité de N ⁰³ K introduite dans 100 cm ³ de liquide type de Raulin	Poids du champignon sec	Poids sec pour 100 gr de champignon frais	Quantité de " lécithines " trouvée		
				Pour 100 gr. de substance sèche	Pour 1000 gr. de substance sèche	Pour 1000 gr. de substance fraîche
Etalon	0 gr.	1 gr. 61	16 gr. 00	1 gr. 643	16 gr. 43	2 gr. 63
1	0 gr. 02	1 gr. 84	16 gr. 76	1 gr. 563	15 gr. 63	2 gr. 62
2	0 gr. 04	1 gr. 80	16 gr. 98	1 gr. 525	15 gr. 25	2 gr. 59
3	0 gr. 06	1 gr. 82	16 gr. 85	1 gr. 513	15 gr. 13	2 gr. 55
4	0 gr. 08	1 gr. 85	16 gr. 60	1 gr. 50	15 gr. 00	2 gr. 49
5	0 gr. 10	1 gr. 83	16 gr. 29	1 gr. 485	14 gr. 85	2 gr. 43
6	0 gr. 15	1 gr. 84	16 gr. 20	1 gr. 450	14 gr. 50	2 gr. 35
7	0 gr. 20	1 gr. 82	16 gr. 00	1 gr. 437	14 gr. 37	2 gr. 30
8	0 gr. 25	1 gr. 78	15 gr. 80	1 gr. 424	14 gr. 24	2 gr. 24
9	0 gr. 30	1 gr. 75	15 gr. 40	1 gr. 39	13 gr. 9	2 gr. 15
10	0 gr. 35	1 gr. 73	15 gr. 00	1 gr. 386	13 gr. 86	2 gr. 08

Nous avons transcrit ces résultats sur le graphique ci-contre.

(1) Toutes les récoltes ont été faites après 10 jours de culture à 25°.

LÉCITHINES

Étalon indiquant la quantité de "lécithines" que renferme une culture de pénicillium sur liquide type de Raulin.



Quantité (en centimètres) de Nourriture 0.02 0.04 0.06 0.08 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35

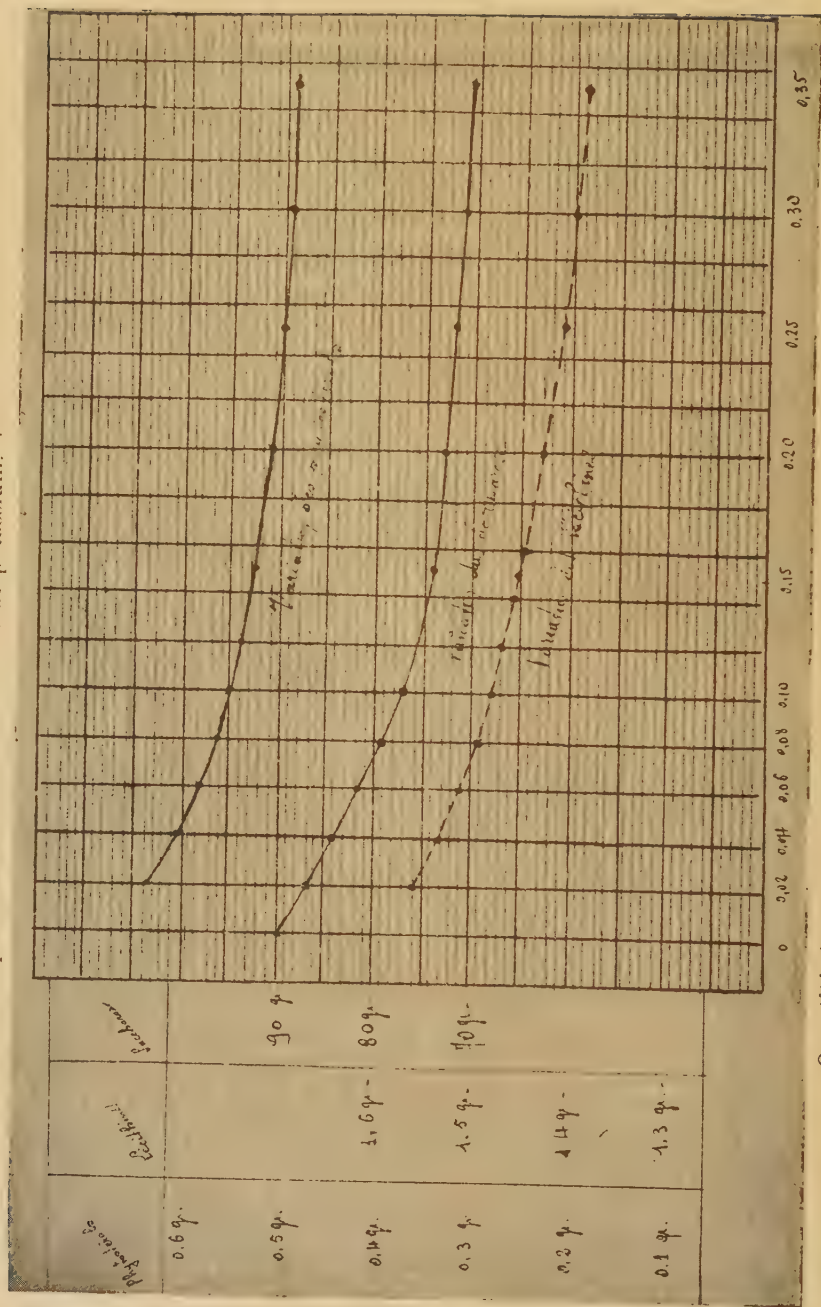
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS :

I. Nous pouvons dire tout d'abord que l'introduction d'azotate de potassium dans le liquide type de Raulin diminue la formation des « lécithines » ; en effet, la proportion des « lécithines » trouvée est beaucoup plus petite en présence d'azotate de potassium qu'en son absence.

II.° Nous constatons aussi que les « lécithines » varient en raison inverse de la quantité d'azotate de potassium introduite dans le liquide type de Raulin : à des quantités *croissantes* d'azotate de potassium correspondent des quantités *décroissantes* de « lécithines ».

Nous avons songé à voir si la nature de l'acide minéral lié à l'ion potassium pouvait retentir sur le rôle de cet ion. Le temps nous a manqué pour vérifier cette hypothèse; nous le ferons plus tard en remplaçant l'azotate de potassium par le chlorure de potassium dans les cultures.

Courbe récapitulative indiquant les variations des sucres, des phytostérols et des lécithines chez le pénicillium glaucum récolté sur du liquide type de Raulin renfermant des quantités croissantes d'azotate de potassium.



Quantités (en centigrammes) de NO_3K ajoutées à 100 gr. de liquide type de Raulin.

Conclusions

I. — L'addition de doses croissantes d'azotate de potassium ralentit le métabolisme des sucres (accharose); à partir de 0 gr. 04 le ralentissement de leur consommation semble proportionnel à la quantité d'azotate de potassium introduite dans le liquide de Raulin, au-dessous de 0 gr. 04 le ralentissement est très faible.

II. — L'introduction d'azotate de potassium dans le liquide type de Raulin augmente la production des phytostérols, elle diminue la formation des lécithines.

III. — Les phytostérols et les lécithines varient en raison inverse des quantités d'azotate de potassium introduites dans le liquide type de Raulin : à des quantités *croissantes* d'azotate de potassium correspondent des quantités *décroissantes* de phytostérols et de lécithines.

Vu :	LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
LE DOYEN,	BREIN.
JEAN LEPINE.	

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 9 Décembre 1930

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
JOSEPH GHEUSI.

Bibliographie

CHAPITRE I

Les échanges minéraux chez les champignons

1. ANDRÉ. — *Précis de chimie végétale*. Baillière, 1924.
2. BENECKE. — *Die zür ernahrung der schimmelpiltze notwendigen metalle Jahr. f. W. Bet.* Tome 27 p. 487.
3. COUPIN. — Sur la toxicité des composés du sodium, potassium, ammonium, à l'égard des végétaux supérieurs. *Ann. générales Bot.* Tome XII, 1900, p. 177.
4. DEMOUSSY. — Absorption par les plantes de quelques sels solubles.
5. GAIN. — *Précis de chimie agricole*, Paris, Baillière, 1918.
6. KLEIN, ALIGNER et H. MULLER. — Assimilation des nitrates par les moisissures. *Zeit. f. physiol. Chem.* tome 159, pages 201-234, année 1926.
7. MOLLIARD. — Echange d'eau et substances minérales.
8. OSTERHOUT. — *The antagonist action of Mg et K. bot. gaz.* T. XLV, 1908, page 117.
9. RAULIN. — Etudes chimiques sur la végétation, Paris 1870, Thèse Doctorat. *Ann. Soc. nat. bot.*, 5^e série, T. XI, 1869.
10. RULF DE LAVISON. — Recherches sur la pénétration des sels dans le protoplasme et sur la nature de leur action toxique. *Ann. Soc. nat. bot.* 9^e série, T. XIV, 1911, page 97.

CHAPITRE II

*Technique suivie
pour l'extraction des phytostérols et des « lécithines »*

11. LEMELAND. — Recherches chim. et phys. sur matières grasses et lipoides du sang. *Bull. Soc. ch. biol.* 1921 et février 1923.
12. KUMAGAWA et SUTTO. — Appareil pour épuiser les corps gras déshydratés. *Bioch. Zeitsch.*, tome VIII, page 213, 1908.
13. KUMAGAWA et SUTTO. — Extraction directe des corps gras. In *Handbuch d. biochemischen arbeits Methoden von Abderholden*, vol. I.

CHAPITRE III

Etude et dosage du saccharose dans le liquide de Raulin

14. BOURQUELOT. — Les matières sucrées chez les champignons. *C. R. ac. Soc. Paris* T. CVIII, 1886, p. 568 et tome CIX 1890, p. 575.
15. BUTKEWITSCH. — De la formation des acides glucosique et nitrique dans les cultures des champignons sur sucre. *Bull. S. C.*, 40-540, 1926.
16. CLAUTRIAU. — Etude chimique du glucogène chez les champignons et les levures. *Mém. Acad. Roy. Bel.*, 1895.
17. COUPIN. — La nutrition carbonée du *Penicillium glaucum* à l'aide de divers composés organiques de la série grasse et aromatique. *Bull. S. C.* 42-1478, 1927.
18. CRAMER. — Les sucres et leurs dérivés.
19. GOMBERT (Mlle). — Contribution à l'étude des diastases, recherches physicochimiques sur la sucrase. *Thèse Montpellier*, 1928.
20. MOLLIARD. — Fermentation des substances ternaires.

21. POLONOWSKY. — Synthèse organique dans le règne végétal. *Bull. S. C. Biologique*, T. VII, pages 526, 589. 1925.
22. RAVIN. — Nutrition carbonée des plantes à l'aide des acides organiques libres et combinés. *Thèse doctorat ès Sciences*, Paris, 1914.
23. VINTILESCO. — Recherches biochimiques sur quelques sucres et glucosides. *Thèse Paris*, 1910.
24. FRANÇOIS. — Dosage des sucres par la méthode de Bertrand. *Manipulation de chimie analytique appliquée*, page 423. Paris, Libr. Le François.

CHAPITRE IV

Les Phytostérols

25. BENECKE. — Origine botanique des phytostérols. *Ann. de Liebig*, 1862.
26. BERTHELOT et JUNGFLEISCH. — Coefficient de partage. *Journal de physique de chimie*, 1871.
27. BRISSEMORET. — Sur la cholestérine. *S. de Biol.*, 29 janvier 1921.
28. BURIAN. — Les alcools cholestériques d'origine végétale ou phytostérols.
29. CZAPEK. — Origine botanique des phytostérols. *Biochemie der Pflanzen*, t. I, p. 166 à 174.
30. GÉRARD. — Contribution à l'étude de la cholestérine animale et végétale. *Thèse Toulouse* 1895.
31. GÉRARD. — Méthode colorimétrique pour doser la cholestérine. *Soc. Biolog.* 1912.
32. GRIGAUT. — Méthode pour séparer et doser la cholestérine. *Soc. Biolog.* juin-juillet 1912.
33. GRIGAUT. — Cycle de la cholestérinémie. *Thèse Paris* 1913.
34. HESSE. — Phytostérols. *Ann. de Liebig*, 1882, page 211; *Ann. de Liebig*, 1878, page 192.

35. HOFFMANN. — Origine botanique des phytostérols.
Ann. de C. et Ph., 1908, 15-328.
36. KLOBB. — Origine botanique des phytostérols. *Bull. des Soc. Pharm.*, mars-avril-mai 1910.
37. MARIE. — Recherches sur la cholestérine. *Ann. de l'Inst. Pasteur*. T. XXXVII, 1923.
38. LEULIER. — Notes sur les stérols animaux et végétaux. *Arch. de Med. et Phar. milit.*, juillet 1930.
39. RITTER. — Méthode d'extraction des phytostérols. *Zeit. F. Phys. Chemie*, 1901, 34.
40. RITTER. — Les alcools cholestériques d'origine végétale ou phytostérols. *Zeit. Phys. Chemie*. 25, p. 431.
41. SCHULTZE et BARBIERI. — Les alcools cholestériques d'origine végétale ou phytostérols. *Journ. prak. chem.*, 1882, 25; *Zeit. Phys. Chem.*, 1890, 14.
42. TANRET V. — Origine botanique des phytostérols. *Ann. de Ph. et Chim.*, 1890, 20 et 1908, 15.
43. TANRET. — Ergostérol. *Ann. de Ch. et Ph.*, 1908, 15.
44. THOMS. — Les alcools cholestériques d'origine végétale. *Arch. de Pharm.*, 1897.
45. WINDAUS. — Propriétés chimiques des phytostérols. *Berichte*, 1908.
46. WINDAUS et HAUTH. — Blé et seigle (embryon). *Berichte*, 1907, 40.

CHAPITRE V

Les « Lécithines »

47. BAUMANN. — On the estimation of organic phosphorus. *Journ. of Biol. chemistry*, 1924, T. LIX, page 667.
48. BELL et DOISY. — Méthodes colorimétriques rapides pour la détermination du phosphore dans l'urine et le sang. *Journal Biol. Chem.*, tome XVIII, page 215, 1914 et tome XLIV, pages 55-67, 1920.

49. BERGELL. — Propriétés des lécithines. *Berichte der deutsch Chem. Gesellsch.*
50. BILLON. — Lécithines.
51. COUSIN. — Propriétés des lécithines. *C. R. Soc. Biol.*, 1906.
52. COUSIN J. — Composition des lécithines. *P. C.*, 18-102, 1906.
53. DASTRE. — Propriétés des lécithines. *Thèse S. N.* 1876.
54. DESGREZ. — Lécithines.
55. FOURNEAU. — Phosphatides. *C. R. Soc. Ch. Biol.*, 1920.
56. KYES P. — Formation des lécithines. *Bioc. Zeitschr.*, 1908.
57. LAPICQUE. — Origine française du procédé dit de Neumann. Incinération par acides sulfurique et azotique. *C. R. Soc. de Biologie*, p. 92, 8 février 1919.
58. LEULIER. — *Pharmacie chimique.*
59. LEBEAU. — *Pharmacie chimique*, page 288, T. II.
60. MACHEBŒUF. — Méthode de dosage du phosphore. *Bull. Soc. Ch. Biol.*, T. VIII, page 464, année 1926.
61. MANCEAU P. — Contribution à l'étude des phytostérines et des lécithines végétales, Lyon, 1926.
62. MANCEAU P. — Contribution à l'étude de l'anesthésie générale. *Thèse Lyon*, 1925.
63. NEUMANN. — Minéralisation avant le dosage des lipoides phosphorés. *Arch. F. Phys.*, page 208, 1907.
64. ROLLET. — Lécithines.
65. SEMPÉ. — Contribution à l'étude du dosage du phosphore dans quelques médicaments minéraux ou organiques. *Thèse Lyon*, 1930.
66. SCHLAGDENHAUFFEN et REELE. — Sur la présence des lécithines dans les végétaux. *Ac. des Sc.*, Tome CXXXV, page 505, 21 juillet 1902.

67. STOKLASA. — Dosage des lécithines végétales. *Ber. d. deutsch chem. gessellschaft.*, Tome XI, page 2761, 1897.
68. TREADWELL et BOLL. — Dosage du phosphore. *Man. de chimie analytique*, tome II, page 401.
69. VORBRODT. — Le métabolisme du P chez quelques champignons et chez l'*Aspergillus*. *Bull. S. C.* 42-1424, 1927.
70. ROUZAUD (J.-S.) et MANCEAU (E.-A.). — Application de la chimie biologique à la station de Vichy. *Archives de Médecine et Pharmacie militaire*, tome LXXIX, 24 octobre 1923.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	7
<i>Chapitre Premier.</i> — Les échanges minéraux chez les champignons	9
<i>Chapitre II.</i> — Technique suivie pour l'extraction des phytostérols et des lécithines	13
<i>Chapitre III.</i> — Etude et dosage du saccharose dans le liquide de Raulin	19
<i>Chapitre IV.</i> — Les phytostérols	25
<i>Chapitre V.</i> — Les lécithines	33
CONCLUSIONS	43
BIBLIOGRAPHIE	45

ERRATUM

Dans le tableau des sucres de la page 22, colonne 8,
lire : 88 gr 20, au lieu de : 90 gr.
